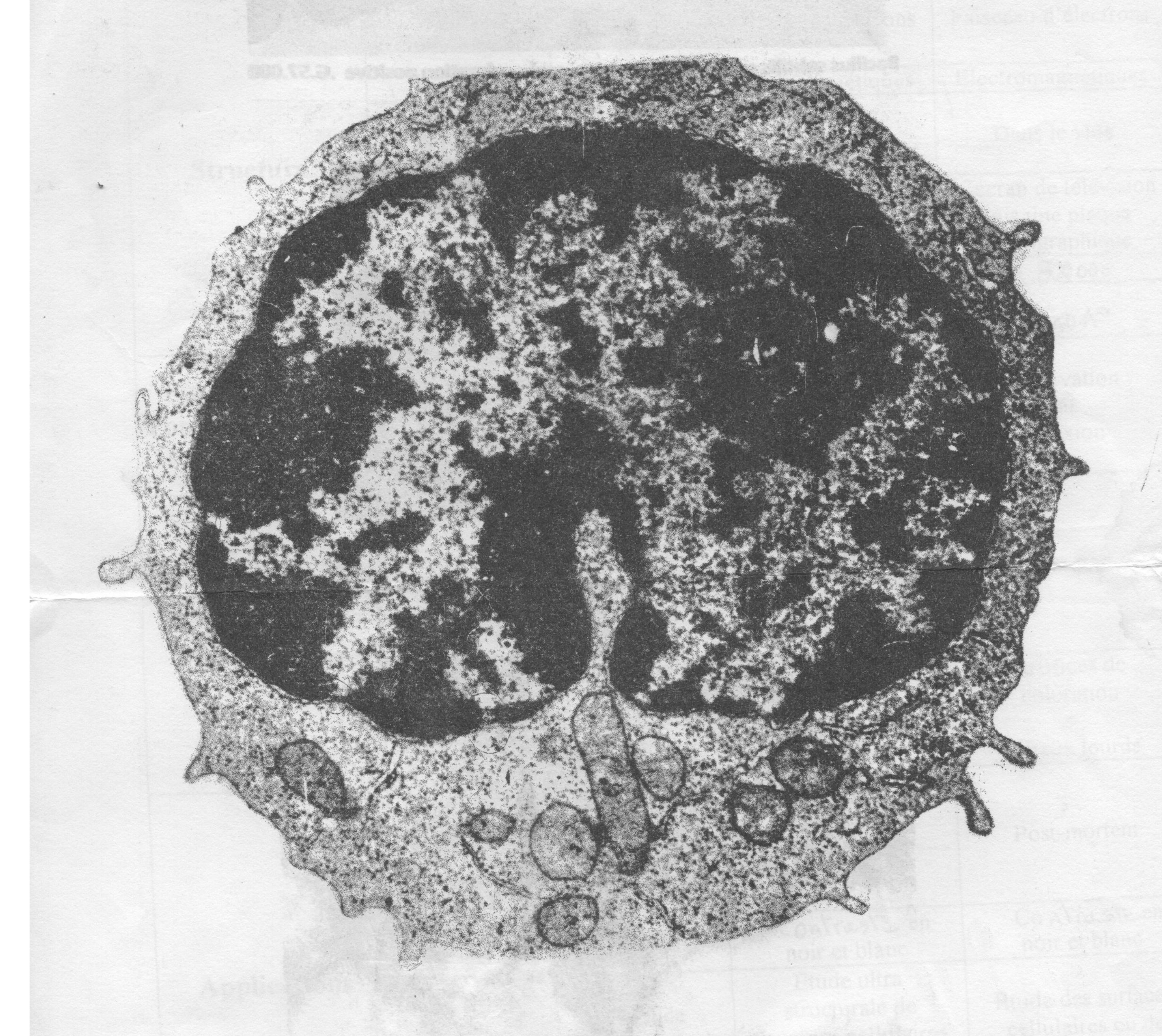
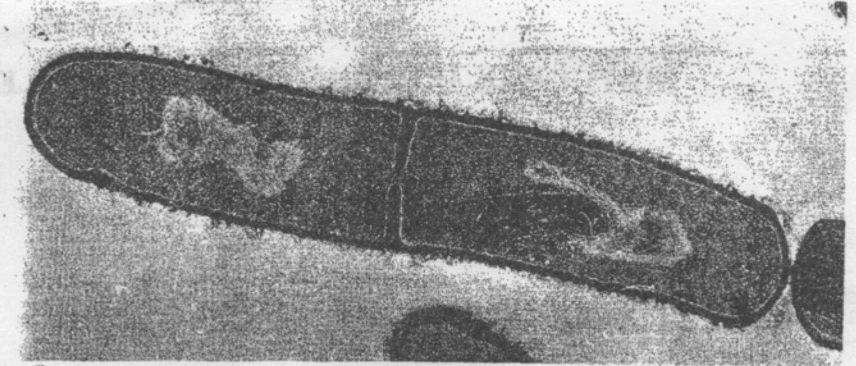
1

METHODES D'ETUDE DE LA CELLULE

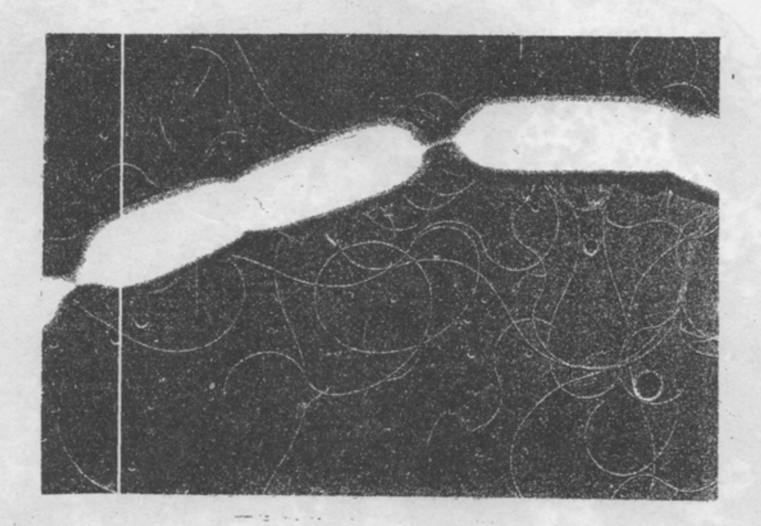


Ultrastructure d'un monocyte sanguin humain. G. 20 000 x

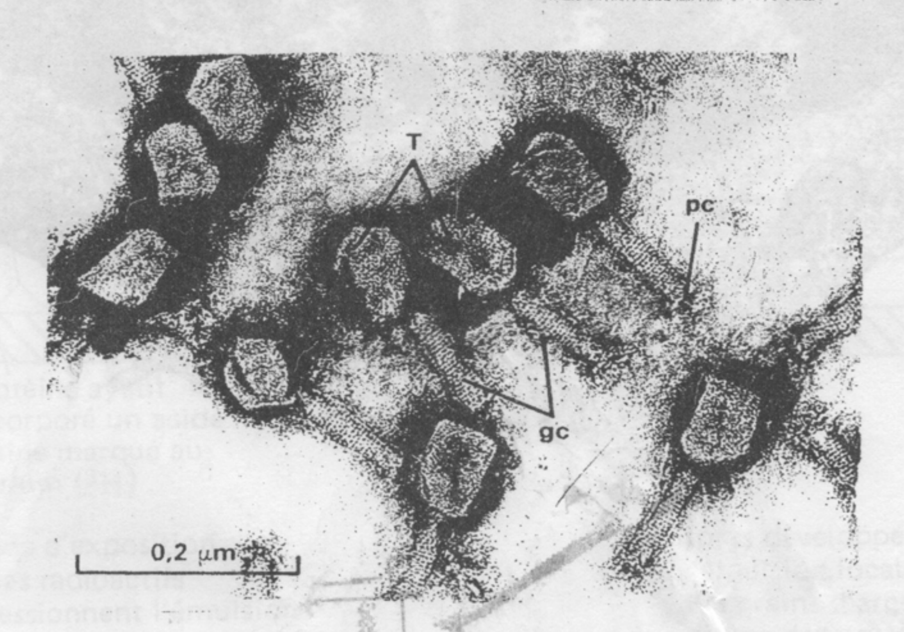
Technique cytologique et coloration (+) et observé au MET



Bacillus subtilis en cours de division après coloration positive .G.57.000



Bacillus subtilis avec flagelles après coloration négative. G.20.000



G. 20 000 x

Bactériophage (T) coloration négative

Eléments de comparaison		Microscope photonique	Microscope électronique à transmission (MET)	Microscope électronique à balayage (MEB)
Structure	Source lumineuse	Faisceau de photons	Faisceau d'électrons	Faisceau d'électrons
	Lentilles	En verre	Electromagnétiques	Electromagnétiques
	Propagation de la source lumineuse	Dans l'air	Dans le vide	Dans le vide
	Image recueillie sur	L'oculaire	L'écran fluorescent puis une plaque photographique	L'écran de télévision puis une plaque photographique.
	Grossissement	X 1500	X 500 000	x 300 000
	Pouvoir de résolution	0.2µ	3 à 5 Å	100 Å
Fonctionnement	Type d'observation	Observation par transmission	Observation par transmission	Observation par réflexion
Conditions d'observation	Echantillon	Epaisseur de coupes = 2 à 10 µ	Epaisseur de coupes = 300 à 600 Å (450 Å en moy.)	Répliques
	Contraste	Colorants sélectifs	Artifices de coloration = sel de métaux lourds	Artifices de coloration = métaux lourds
Applications	Observations	Vitale et Post-mortem	Post-mortem	Post-mortem
		Coloration réelle	Contraste en noir et blanc	Contraste en noir et blanc
		Etude structurale de tissus ou de cellules entières	Etude ultra structurale de fractions cellulaires • d'organites • cellules entières	Etude des surfaces cellulaires ou de microorganismes entiers (bactéries, virus…)

Conclusion : La microscopie photonique et électronique nous fournissent des informations complémentaires.

Tableau comparatif entre 3 microscopes photoniques

Eléments de comparaison	Microscope photonique ordinaire	Microscope photonique à contraste de phase	Microscope photonique à fluorescence
Principe de fonctionnement	Par transmission : lumière photons envoyée verticalement est traversée par l'objet puis transmise à loculaire et à l'œil de l'observateur *Rôle étude histologique*	Un système optique permet de retarder la longueur d'onde de lumière réfractée par l'échantillon (décalage de phase)	La lumière transmise correspond à la lumière fluorescente émise par le fluorochrome utilisé *Rôle : localisation de macromolécules ou de molécules*
Préparation de l'échantillon	Technique histologique : fixation, coupe et coloration	Sans préparation	Molécules conjuguées à un fluorochrome et ajoutées à l'échantillon. Ex de fluorochromes : Fluorescéine qui émet une lumière verte Rhodamine qui émet une lumière rouge
Application	Observations vitales et post mortem de cellules entières voire des organes organismes entiers. Colorations réelles,	Observations vitales de cellules ou de structures cellulaires très réfringentes comme les cils et les flagelles. Etude des mouvements cellulaires.	Détection, localisation et quantification d'une ou plusieurs molécules Observation d'organites qui ne s'apprêtent pas à la coloration ordinaire comme le cytosquelette Etude cinétique à travers de coupes sériées

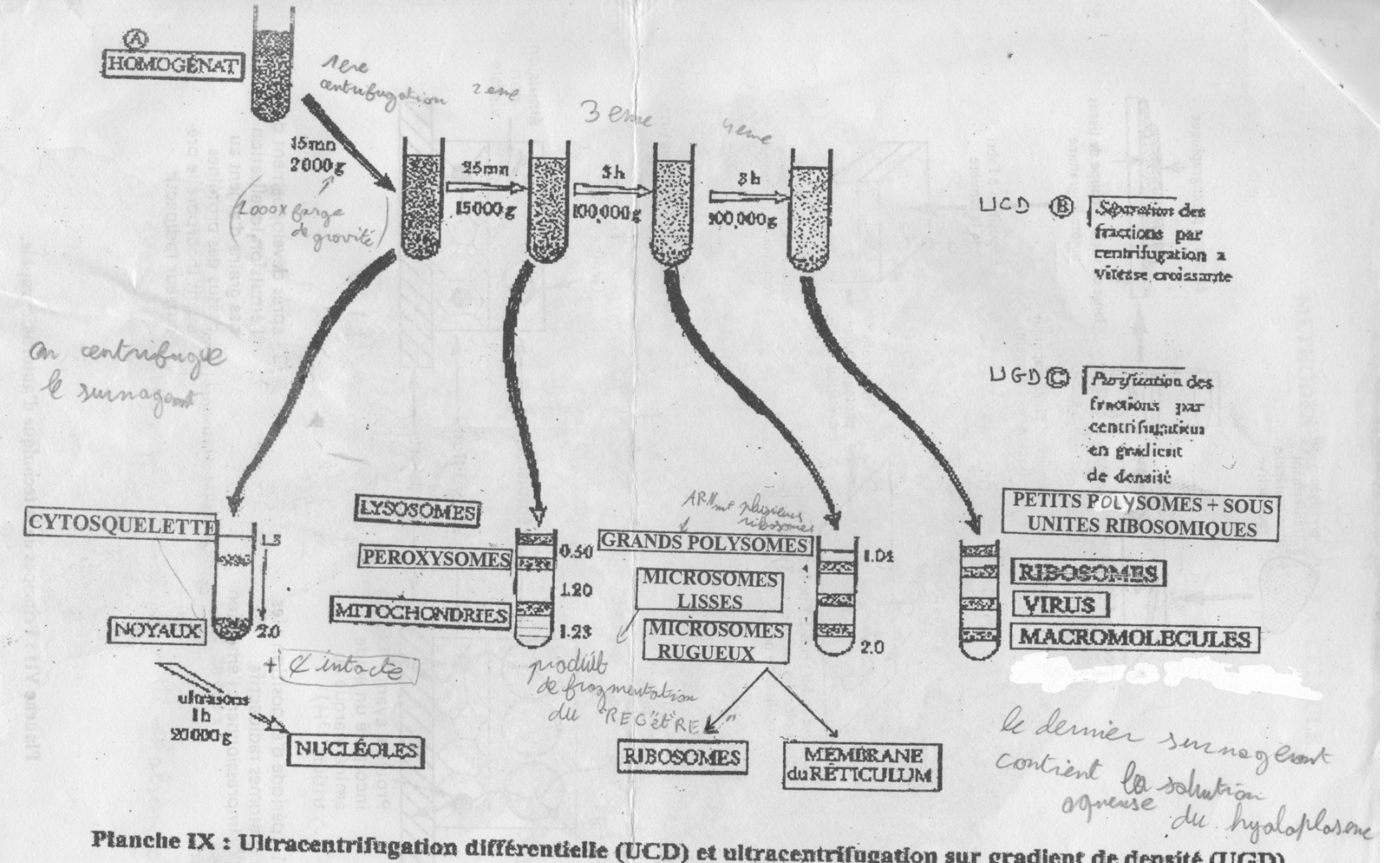


Planche IX : Ultracentrifugation différentielle (UCD) et ultracentrifugation sur gradient de densité (UGD) d'un homogénat cellulaire

tissu renfermant une molécule radioactive

coupe de tissus

émulsion photographique liquide (sels d'argent)

émulsion photographique

lame de verre

coupe de tissus

autoradiogramme

Exposition à l'abri de la lumière

les désintégrations du radioisotope impressionnent l'émulsion photographique

Traitement photographique (révélation, fixage)

grains d'argent métallique

analyse en MO et MET de la localisation des molécules radioactives à partir de la localisation des grains d'argent

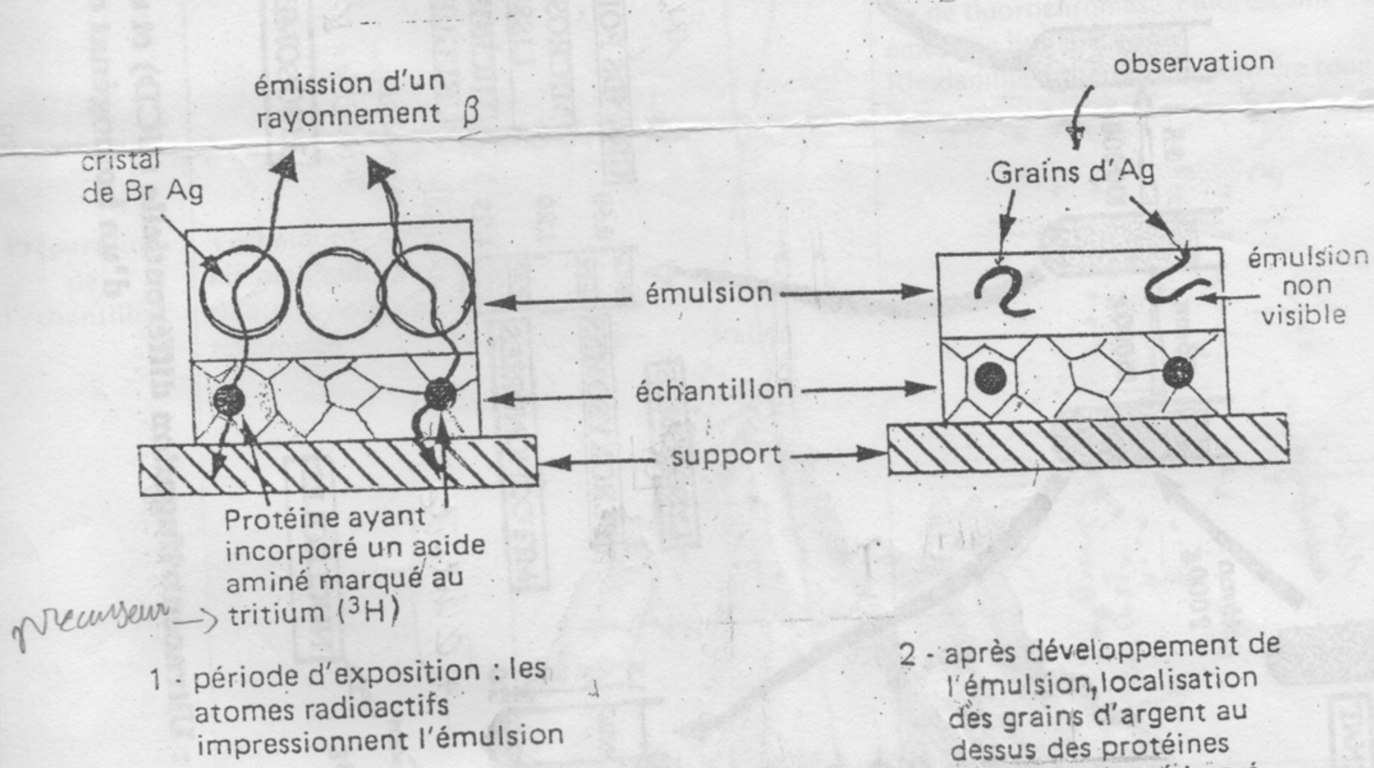


Planche VII : Principes de la technique d'autoradiographie.